

jc784 U.S. PTO

09/629341



대한민국 특허청
KOREAN INDUSTRIAL
PROPERTY OFFICE

별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Industrial
Property Office.

출원번호 : 특허출원 2000년 제 22593 호
Application Number

출원년월일 : 2000년 04월 27일
Date of Application

출원인 : 벤트리 주식회사
Applicant(s)



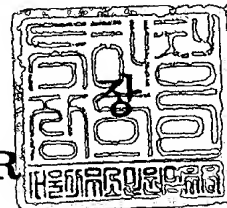
2000 년 05 월 31 일

특

허

청

COMMISSIONER



【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	0002
【제출일자】	2000.04.27
【발명의 명칭】	감태로부터 분리된 신규 물질, 이의 추출 및 정제방법, 및 항산화제로 사용하는 용도
【발명의 영문명칭】	Novel Material Separated from Ecklonia cava, The Metho for Extracting and Purifying the Same, And The Use Thereof for Antioxidants
【출원인】	
【명칭】	벤티리 주식회사
【출원인코드】	1-1998-099312-4
【대리인】	
【성명】	염승윤
【대리인코드】	9-1998-000397-9
【포괄위임등록번호】	1999-036786-0
【대리인】	
【성명】	이철
【대리인코드】	9-1998-000351-1
【포괄위임등록번호】	1999-036785-2
【대리인】	
【성명】	이인실
【대리인코드】	9-1998-000349-5
【포괄위임등록번호】	1999-036784-5
【발명자】	
【성명의 국문표기】	이봉호
【성명의 영문표기】	LEE, Bong Ho
【주민등록번호】	600205-1810116
【우편번호】	302-243
【주소】	대전광역시 서구 관저동 대자연마을 아파트 103동 1206호
【국적】	KR

【발명자】**【성명의 국문표기】**

최병욱

【성명의 영문표기】

CHOI, Byung Wook

【주민등록번호】

610718-1069214

【우편번호】

305-390

【주소】

대전광역시 유성구 전민동 청구나래 아파트 109동 1505호

【국적】

KR

【발명자】**【성명의 국문표기】**

유건식

【성명의 영문표기】

RYU, Geon Seek

【주민등록번호】

590920-1452432

【우편번호】

305-503

【주소】

대전광역시 유성구 송강동 8-2 청솔 아파트 310동 304호

【국적】

KR

【발명자】**【성명의 국문표기】**

김상근

【성명의 영문표기】

KIM, Sang Keun

【주민등록번호】

610916-1405217

【우편번호】

463-010

【주소】

경기도 성남시 분당구 정자동 청구 아파트 103동 1702호

【국적】

KR

【발명자】**【성명의 국문표기】**

신현철

【성명의 영문표기】

SHIN, Hyeon Cheol

【주민등록번호】

640211-1029510

【우편번호】

305-345

【주소】

대전광역시 유성구 신성동 한울 아파트 106동 1306호

【국적】

KR

【심사청구】

청구

【취지】

특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인

염승윤 (인) 대리인

이철 (인) 대리인

이인실 (인)

【수수료】

【기본출원료】	19 면	29,000 원
----------------	-----------	-------------

【가산출원료】	0 면	0 원
----------------	----------	--------

【우선권주장료】	0 건	0 원
-----------------	----------	--------

【심사청구료】	10 항	429,000 원
----------------	-----------	-------------

【합계】	458,000 원
-------------	--------------

【감면사유】	중소기업
---------------	------

【감면후 수수료】	229,000 원
------------------	--------------

【첨부서류】	1. 요약서·명세서(도면)_1통 2. 중소기업법시행령 제2조에 의 한 중소기업에 해당함을 증명하는 서류 _1통
---------------	--

【요약서】**【요약】**

본 발명은 감태로부터 추출된 신규 물질, 이를 추출, 정제하는 방법, 및 상기 물질을 향산화제로 사용하기 위한 용도에 관한 것으로, 상기 추출 및 정제 방법은 파쇄된 감태에 유기용매를 첨가하여 1회 또는 2회 이상 추출하는 단계; 상기 추출된 물질을 1회 또는 2회 이상 용매분획하는 단계; 및 상기 용매분획물을 크로마토그래피법으로 정제하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 한다.

본 발명에 따라 감태로부터 추출된 물질은 향산화 활성이 높고, 열안정성이 우수하여 천연 향산화제로서 유용하게 응용될 수 있고 상업화에 적합한 장점을 갖는다.

【색인어】

감태, 향산화제, 추출, 분획, 정제

【명세서】

【발명의 명칭】

감태로부터 분리된 신규 물질, 이의 추출 및 정제방법, 및 항산화제로 사용하는 용도{Novel Material Separated from Ecklonia cava, The Method for Extracting and Purifying the Same, And The Use Thereof for Antioxidants}

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

- <1> 본 발명은 감태(Ecklonia cava)로부터 분리된 신규의 물질, 이의 추출, 정제방법, 및 이를 항산화제로 사용하기 위한 용도에 관한 것으로, 보다 구체적으로 감태로부터 추출된 신규의 물질; 감태로부터 유기용매를 사용하여 추출하고, 추출된 물질을 용매분획한 다음, 각종 크로마토그래피법으로 정제하는 단계를 포함하는 상기 물질의 추출 및 정제 방법; 및 상기 물질을 천연 항산화제로 사용하는 용도에 관한 것이다.
- <2> 인체는 산소를 이용한 에너지 대사를 통하여 섭취된 영양분으로부터 에너지를 얻어 생존하고 있다. 그러나 각종 물리적, 화학적, 생물학적 스트레스를 받으면 슈퍼옥사이드 음이온 라디칼(O_2^-), 과산화수소, 히드록시 라디칼 등의 유해한 활성산소종으로 변하여 인체에 치명적인 생리적 장애를 일으키고 심할 경우에는 질병을 유발한다. 생체는 활성산소종을 제거하는 자기방어기구로서 항산화 기구를 발달시키면서 진화해 왔으며, 조직의 방어능력을 초월한 활성 산소종의 발생은 단백질, DNA, 효소 및 T세포와 같은 면역체통의 인자를 손상시켜 각종 질환의 원인이 된다. 또한, 활성 산소종은 세포 생체막

의 구성성분인 불포화 지방산을 공격하여 과산화반응을 일으키고, 이로 인하여 생체 내 축적된 과산화지질은 노화와 각종 질병을 유발하는 것으로 알려져 있다.

<3> 게다가 노화와 성인병의 원인이 활성 산소종에 기인된 것이라는 학설이 광범위하게 인정받게 되었으며, 1940년대 자동산화에 대한 연구가 이루어진 이후로 현재까지 꾸준히 연구되고 있다. 항산화제는 산화반응을 억제시킬 수 있는 물질로서 식품의 산패, 인체 조직의 노화 등을 억제시키는데 사용된다. 특히, 널리 알려져 있는 항산화제는 부틸히드록시톨루엔(BHT), 부틸히드록시아니솔(BHA) 등의 합성 항산화제이며, 식품산업에서 널리 사용되고 있다. 그러나, 이러한 합성 항산화물질이 발암성이 있는 것으로 알려져 있고, 합성 항산화제에 대한 소비자의 기피 현상이 두드러짐에 따라 종래의 합성 항산화제의 문제점을 극복하기 위하여 천연물에서 항산화 물질을 추출하여 제조하는 방법이 각광을 받게 되었다. 그 중 하나가 당근으로부터 베타-카로텐을 추출하는 방법이 알려져 있으나, 상기 방법은 추출량이 적어 상업성이 떨어지는 단점이 있었다. 최근 일본의 신야(Shin-Ya) 등은 미생물 균주인 스트렙토마이시스(*Streptomyces*) CL 190으로부터 나프테르핀(naphterpin)이라는 항산화제를 추출하여 그 구조를 규명하였으나 상업화되지는 못하였고(K. Shin-Ya, S. Imai, K. Furihata, Y. Hayakawa, K. Kato, G. D. Vanduyne, J. Clardy and H. Seto, *J. Antibiotics* 43, 444(1990)), 데시마 등과(Teshima et al)

모 등도(Mo et al) 미생물에서 항산화성 물질을 추출하였음을 보고하였으나 이들 역시 실용화에는 실패하였다(Y. Teshima and K, Shin-Ya, J. Antibiotics 44, 685(1991); C. J. Mo, K. Shin-Ya, K. Furihata, A Shimazu, Y Hayakawa and H. Seto, J. Antibiotics 43, 1337(1990)). 이외에도, 농산물과 해산물로부터 여러 가지의 항산화성 물질을 얻고자 하는 연구가 최근에도 활발히 진행되고 있다. 특히, 토코페롤이 가장 대표적인 천연 항산화제로 알려져 있으며, 차 잎 추출물 등으로부터 다양한 항산화물질을 얻을 수 있음이 알려져 왔다.

<4> 대한민국 공고특허 제1997-3067호는 어피를 열수 침지시켜 젤라틴을 추출하고, 추출된 젤라틴을 3단계 효소 막반응기에서 가수분해시켜 효소분해물을 얻음으로써 천연 항산화제를 제조하는 방법을 개시하고 있다.

<5> 또한, 대한민국 특허출원 제99-60007호는 해당화를 유기용매로 추출하여 항산화 활성을 갖는 해당화 추출물을 얻고 이로부터 베타그루코갈린 물질을 분리 및 정제하는 방법을 개시하고 있다.

<6> 한편, 1980년대 후반부터 해조류로부터 생리활성 물질, 특히 항산화성 물질을 추출하고자 하는 시도가 있었으며, 특히 프랑스와 일본에서 많은 연구가 진행되고 있다. 다카키(Tagaki)와 미야시다(Miyashida)는 일본 근해에서 서식하는 12종류의 해조류로부터 천연물을 추출하여 이 물질에 대한 토코페롤 성분을 조사한 결과, 알파형이 주성분이며, 소량의 베타형이 존재하는 것으로 밝혀졌다(K. Miyashita and T. Tagaki, Agric. Biol. Chem. 51, 315(1987)). 또한 가네니와(Kaneniwa) 등은 일본 근해에서 서식하는 해조류로부터 항산화성 물질을

추출하였는데 이들은 해조류의 지질성분에서 항산화성을 갖는 5-올레핀산(olefinic acid) 등이 존재한다고 보고하였는데(M. Kaneniwa, Y. Itabashi and T. Tagaki, Nippon Suisan Gakkashi 53, 861(1987)), 상기 화합물들은 항산화제로는 흔하지 않은 물질들이다. 니시보리(Nishibori)와 나카미(Nakami) 등은 7종류의 해조류를 헥산/에탄올 혼합물로 항산화 물질을 추출하여 그들의 항산화 활성을 측정한 결과, 김과 미역에서 추출된 지질이 기준에 사용되어 오던 BHA 및 알파-토코페롤에 필적할 만한 항산화성을 나타낸다고 보고하였다(S. Nishibori and K. Namiki, 가정학잡지 36, 17(1985)). 그러나 이 역시 추출량이 매우 적어 상업화되기는 곤란하였다.

<7> 우리 나라에서도, 박 재한 등이 12 종류의 해조류를 메탄올과 클로로포름을 순차적으로 사용하여 각각의 추출물을 얻어 항산화 활성을 측정하였다. 그 결과, 김, 미역, 다시마 등에서 BHA보다 우수한 항산화성을 나타내는 물질을 얻었으나 열안정성 등의 문제로 이 역시 상업화되지는 못하였다(박 재한, 강 규찬, 백 상봉, 이 윤형, 이 규순, 한국식품과학회지 23, 256(1991)).

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<8> 이에 따라, 본 발명자들은 해조류로부터 유용한 물질을 추출, 정제하기 위하여 광범위한 연구를 수행한 결과 우리나라 근해에 서식하는 해조류인 감태로부터 분리된 신규의 물질이 우수한 항산화 활성 및 열안정성을 갖고 있기 때문에 항산화제로 응용할 수 있음을 발견하기에 이르렀고, 이를 추출 및 정제하는 방법을 개발하기에 이른 것이다.

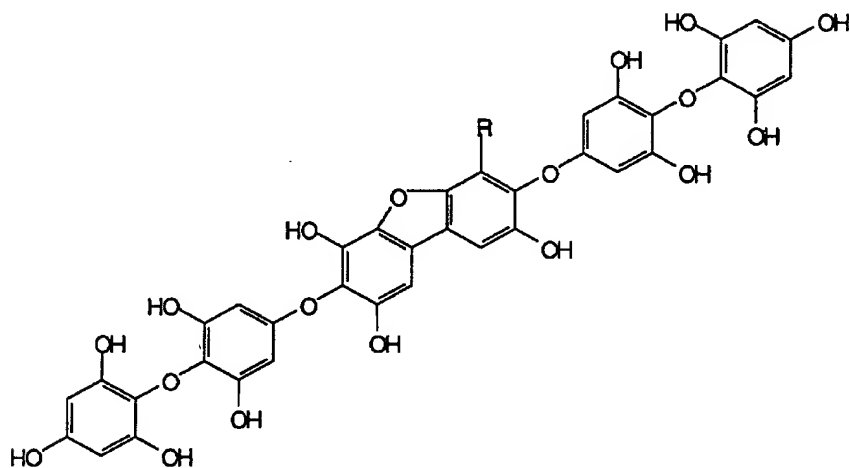
<9> 따라서, 본 발명의 목적은 우리나라 근해에 서식하는 해조류인 감태로부터 추출되는 신규의 물질을 제공하는 것이다.

<10> 본 발명의 다른 목적은 우리나라 근해에 서식하는 해조류인 감태로부터 천연 물질을 추출 및 정제하는 방법을 제공하는 것이다.

<11> 본 발명의 또 다른 목적은 감태로부터 추출된 물질의 우수한 소거활성 및 열안정성을 이용하여 항산화제로 사용하는 용도를 제공하는 것이다.

<12> 본 발명의 상기 목적을 달성하기 위한 신규의 물질은 하기 화학식 1로 표시된다:

<13> 【화학식 1】



<14> 상기식에서 R은 수소 또는 히드록시기이다.

<15> 본 발명의 다른 목적을 달성하기 위하여, 감태로부터 상기 물질을 추출, 정제하는 방법은 파쇄된 감태에 유기용매를 첨가하여 1회 또는 2회 이상 추출하는 단계; 상기 추출된 물질을 1회 또는 2회 이상 용매분획하는 단계; 및 상기 용매분획된 성분을 크로마토그래피법으로 정제하는 단계;를 포함한다.

<16> 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 감태로부터 추출된 신규의 물질은 항산화제로 적용된다.

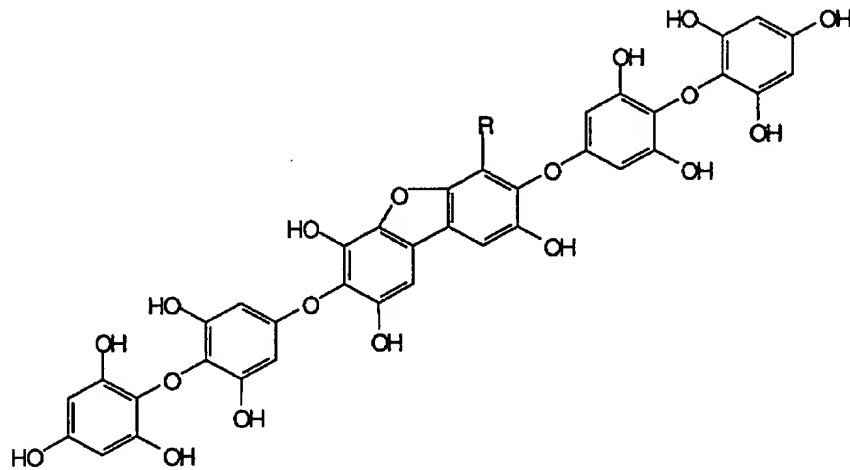
【발명의 구성 및 작용】

<17> 이하, 본 발명을 좀 더 구체적으로 살펴보면 다음과 같다.

<18> 본 발명에 따른 신규의 물질은 하기 화학식 1로 표시되며, 소거활성이 우수하고 열 안정성이 뛰어나기 때문에 주로 항산화제로 사용할 수 있다:

<19> 화학식 1

<20>



<21> 상기식에서 R은 수소 또는 히드록시기이다.

<22> 상기 항산화성 물질을 추출, 정제하는 방법은 다음과 같다:

<23> 먼저 채취된 감태를 증류수로 세척하여 이물질을 제거한 후에 음지에서 건조한 후에 이를 파쇄한다. 실온 조건에서 상기 파쇄된 감태에 유기용매를 가하여 상기 화학식 1로 표시되는 성분을 포함하는 물질을 추출한다. 상기 유기용매로는 메탄올, 에탄올, 에틸 아세테이트, 아세토니트릴, 아세톤, 물과 이들의 혼합물 및 물/에탄올 혼합물로 이루어진 군으로부터 하나 또는 그 이상을 선택하여 사용하는 것이 바람직하다. 선택적으로, 수득율을 높이기 위하여 상기 추출과정을 2회 이상 반복하여 실시할 수 있으며, 이때 반복단계마다 다른 유기용매를 사용할 수 있다. 추출된 물질 내에 함유된 잔사 및

용매를 제거하기 위하여 예를 들면, 원심분리기 및 회전증발 농축기와 같은 분리, 농축 수단을 이용할 수 있다. 상기 과정을 거친 추출물을 직접 다양한 응용분야에 사용할 수 있으며, 이러한 경우에는 별도의 추가공정을 요하지 않기 때문에 경제적으로 유리한 장점을 갖는다. 다만, 보다 순도 높은 형태가 요구되는 경우에는 다음과 같은 추가적인 분리, 정제 과정을 거치는 것이 바람직하다.

<24> 추출과정에서 얻어진 물질은 분획 공정으로 처리된다. 선택적으로 분획공정에 앞서 먼저 추출물을 에틸아세테이트 및/또는 메탄올에 용해시켜 여기에 용해되지 않는 물질을 제거하는 과정을 포함할 수 있다. 이러한 분획 방법의 한 구체예로서 먼저 10~90%의 메탄올 수용액을 극성층으로 사용하고, 비극성층으로 헥산, 시클로헥산, 펜탄 등의 선형 또는 환형 탄화수소 용매; 및 벤젠, 톨루엔 등의 방향족 용매를 단독으로 또는 혼합하여 비극성층으로 사용함으로써 1차 용매분획을 실시한다. 특히, 60~90%의 메탄올 수용액과 헥산을 사용하는 것이 바람직하다. 1차 용매분획 결과, 본 발명의 신규 성분은 주로 메탄올 수용액층에 존재하게 된다. 상기 성분이 용해된 메탄올 수용액을 극성층으로 10~60%의 메탄올 수용액을 사용하고 비극성층으로 이소프로필에테르를 포함하는 에테르류에서 1 또는 2 종류 이상 사용하여 2차 용매분획을 실시한다.

바람직하게는, 20~40%의 메탄올 수용액과 이소프로필에테르를 사용한다. 상기 2차 용매분획 과정에서도, 신규 성분은 주로 10~60%의 메탄올 수용액층에 존재한다. 상기 성분이 포함된 메탄올 수용액층은 다시 10~60%의 메탄올 수용액을 극성층으로 사용하고, 클로로포름 및 디클로로메탄을 단독으로 또는 혼합하여 비극성층으로 사용하여 3차 용매분획을 실시한다. 바람직하게는 30~50%의 메탄올 수용액과 클로로포름을 사용한다.

<25> 상기 공정에 의하여 얻어진 메탄올 수용액층의 유기분획물을 정제하기 위하여, 이

를 다시 순수한 증류수에 용해시킨 다음, 막을 통과시켜 활성 성분을 분리하고, 활성이 높은 성분만을 모아서 중압액체크로마토그래피(MPLC) 또는 고성능 액체크로마토그래피(HPLC) 등의 크로마토그래피법을 사용하여 정제한다. 이러한 크로마토그래피법은 예시적인 것으로, 본 발명의 신규 물질의 정제에 필요한 범위 내에서 기타 다른 크로마토그래피법도 사용할 수 있다.

<26> 상기 추출 및 정제 공정을 통하여 얻어진 성분의 항산화 활성은 블로이스(Blois) 방법에 따라 분자에 유리 라디칼이 붙은 1,1-디페닐-2-피크릴히드라질 (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl : DPPH)의 라디칼 소거 활성을 측정함으로써 평가된다. 또한, 상기 성분의 열안정성은 복수의 온도 지점에서의 항산화 활성을 측정함으로써 평가될 수 있다.

<27> 본 발명은 하기의 실시예에 의하여 보다 명확히 이해될 수 있으며, 하기의 실시예는 본 발명의 예시 목적에 불과하며 발명의 영역을 제한하고자 하는 것은 아니다.

<28> 실시예 1 : 추출 공정

<29> 채취하여 음건한 뒤에 잘게 분쇄한 410g의 감태를 1ℓ의 둥근 바닥 플라스크에 넣고 실온에서 800ml의 메탄올로 12시간 동안 천천히 교반하여 항산화 물질 등을 추출하였다. 이러한 과정을 수회 반복하였고, 총 6.5ℓ의 메탄올을 사용하여 추출하였다. 그 다음, 저온에서 원심분리하여 잔사를 제거하였고 회전 증발농축기를 사용하여 메탄올을 제거하였다. 농축된 추출물의 양은 64.1g이었다.

<30> 실시예 2 : 분획 공정

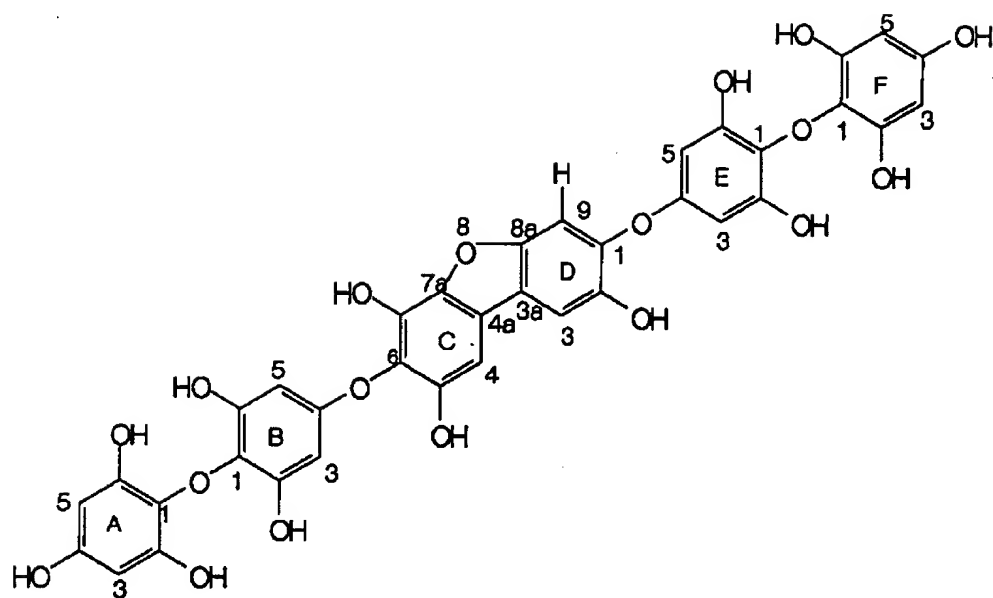
<31> 실시예 1에서 추출된 성분을 4ℓ의 에틸아세테이트에 용해시킨 후에 여과하여 농축

하였고, 용해되지 않은 잔사를 제거하였다. 상기 에틸아세테이트 용액은 다시 90% 메탄올 수용액 1ℓ와 n-헥산 3.5ℓ를 사용하여 1차 용매분획을 실시하였다. 이 과정에서 항산화 활성 성분은 메탄올 수용액 층에 존재하였으며, 상기 메탄올 수용액 층을 다시 30%의 메탄올 수용액 1ℓ와 이소프로필에테르 1ℓ를 사용하여 2차 용매분획하였다. 2차 용매분획 단계에서도 항산화 활성 성분은 30% 메탄올 수용액 층에 존재하였으며, 다시 40%의 메탄올 수용액 1ℓ와 클로로포름 1ℓ를 사용하여 3차 용매분획을 실시하였고, 40%의 메탄올 수용액 층을 감압 건조하여 2.85g의 유기분획물을 얻었다.

<32> 실시예 3 : 정제 공정

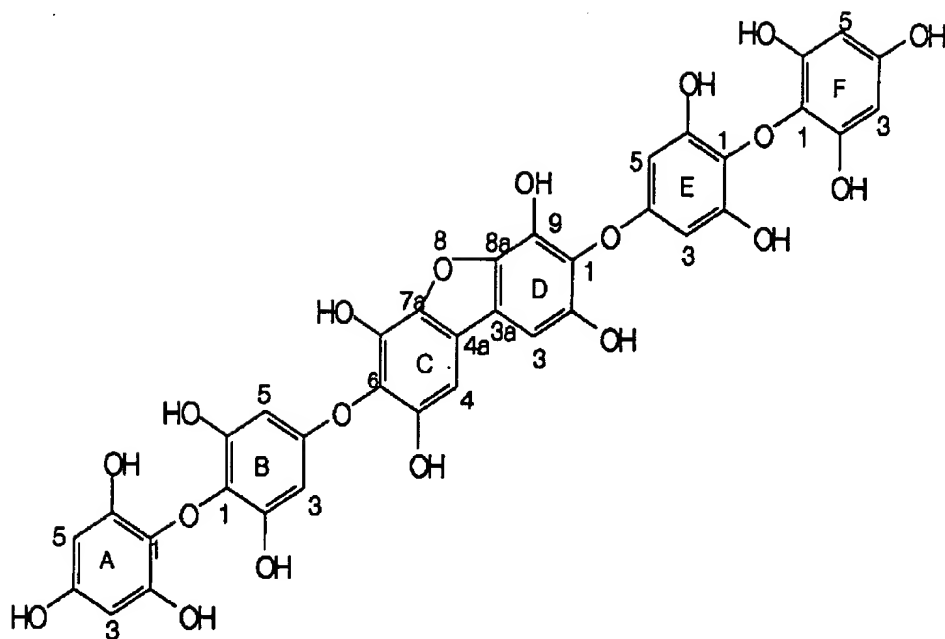
<33> 25×500mm의 유리관에 200 μ m 직경의 ODS(octadesylsilyl) 충전제를 충전한 컬럼에 상기 실시예 2로부터 얻어진 유기 분획물을 얻고 30%의 메탄올 용액으로 용리시켜 활성 성분 850mg을 얻었다. 상기 활성성분은 다시 고성능액체크로마토그래피(아세토니트릴 : 물 = 20 : 80, 유속 = 2.0ml/min, 10×250mm C-18 컬럼)를 이용하여 2가지 물질을 얻었으며, 그 중 하나의 물질(Dicaval A)에 대한 자외선-가시광선 스펙트럼의 측정값은 UV(MeOH) λ_{\max} 231nm(ϵ 6300), 246, 295 (8800), 적외선 스펙트럼의 측정값은 IR(film) ν_{\max} 3300(alc), 2950, 1590(aromatic) cm^{-1} , 그리고 질량분석 스펙트럼의 측정값은 HRFABMS(pos) m/z 745.1039[(M+H)⁺, C₃₆H₂₄O₁₈, Δ +0.3mmu]이었다. 또한, ¹H-NMR을 이용하여 분석한 결과 δ ¹H(multi, JHz)는 6.33(H, d, 1.6), 6.61(H, d, 1.6), 6.64(H, s), 6.64(H, s), 6.64(H, s), 6.75(H, s), 6.80(H, s), 6.79(H, s), 6.79(H, s), 6.22(H, d, 1.2), 6.66(H, d, 1.2)이었으며, 상기 분석결과로부터 상기 물질의 구조가 하기 화학식 1a임을 확인하였다.

<34> 【화학식 1a】



<35> 또한, 다른 하나의 물질(Dicaval B)에 대한 자외선-가시광선 스펙트럼의 측정값은 UV(MeOH) λ_{\max} 232nm(ϵ 6500), 246, 296 (9000), 적외선 스펙트럼의 측정값은 IR(film) ν_{\max} 3350(OH), 2950, 1580(aromatic) cm^{-1} , 그리고 질량분석 스펙트럼의 측정값은 HRFABMS(pos) m/z 761.1024 $[(M+H)^+]$, $\text{C}_{36}\text{H}_{25}\text{O}_{18}$, $\Delta+0.4\text{mmu}$ 이었다. 또한, ^1H -NMR을 이용하여 분석한 결과 δ ^1H (multi, JHz)는 6.33(H, d, 1.6), 6.61(H, d, 1.6), 6.64(H, s), 6.64(H, s), 6.64(H, s), 6.75(H, s), 6.79(H, s), 6.79(H, s), 6.22(H, s, 1.2), 6.66(H, d, 1.2)이었으며, 상기 분석결과로부터 상기 물질의 구조가 하기 화학식 1b임을 확인하였다.

<36> 【화학식 1b】



<37> 실시예 4 : 항산화 활성 측정

<38> 실시예 3에서 얻어진 디카발 A(Dicaval A) 및 디카발 B(Dicaval B)에 대한 항산화 활성 측정은 블로이스 방법에 따라 분자에 유리라디칼이 붙은 1,1-디페닐-2-피크릴히드라질(DPPH)의 라디칼 소거 활성을 측정하였다. 블로이스 방법은 DPPH 20mg을 에탄올 150ml에 용해시켜 DPPH 용액을 제조하고, 이 용액 600 μ l에 디메틸설폭사이드(DMSO) 250 μ l를 가하고 적당량의 에탄올로 희석시켜 10초 동안 진탕시킨 후에 517nm에서 대조군의 흡광도가 0.94에서 0.97이 되도록 맞춘다. 동일한 방법으로 흡광도가 0.94에서 0.97인 DPPH 용액 1ml에 각 시료(μ g에서 mg)를 넣고 완전히 혼합한 후에 10분 동안 반응시켜 흡광도를 측정하여 대조군에 대하여 감소한 흡광도 값을 DPPH 라디칼 소거활성으로 하여 항산화 활성도를 측정하였다. 기존의 항산화제로 사용되는 물질과의 비교값은 하기 표 1에 나타내었다.

<39> 【표 1】

시료량(μg)	BHT	디카발 A	디카발 B	아스코르브산
10	74%	100%	100%	100%
20	87%	100%	100%	100%
100	91%	100%	100%	100%

<40> 상기 값은 디카발 A 및 디카발 B의 각 농도에 대하여 10분 경과후의 DPPH 라디칼 소거활성 ΔA 를 100%로 하여 상대적인 활성화 활성을 비교한 것임.

<41> 실시예 5 : 열안정성의 평가

<42> 실시예 3에서 얻어진 디카발 A(Dicaval A) 및 디카발 B(Dicaval B) 각각 $50\mu\text{g}$ 을 사용하여 40°C , 60°C , 80°C , 및 100°C 에서 1시간 동안 가열한 후에 항산화 활성을 측정하여 하기 표 2에 나타내었다.

<43> 【표 2】

온도($^\circ\text{C}$)	항산화 효과(흡광도 변화)		비고
	디카발 A	디카발 B	
40	0.87	0.88	안정
60	0.89	0.88	안정
80	0.88	0.87	안정
100	0.90	0.89	안정

<44> 상기 표의 결과로부터 본 발명의 항산화성 천연 물질은 종래에 널리 사용된 BHT에 비하여 항산화성이 우수하였으며, 특히 넓은 온도 범위에서도 항산화 효과를 일정하게 유지시키는 점으로부터 열안정성이 우수하다는 점을 알 수 있었다.

【발명의 효과】

<45> 본 발명에 따른 신규의 물질은 종래의 항산화제에 비하여 소거활성이 우수하고, 열안정성이 높은 장점을 가지며, 항산화제 투여에 의한 부작용을 최소화할 수 있으므로 종

래의 합성 항산화제를 대체할 수 있다. 또한, 우리나라 근해에 널리 서식하는 해조류인 감태를 이용하여 추출, 정제됨으로써 경제성을 제고시킬 수 있는 장점을 갖는다.

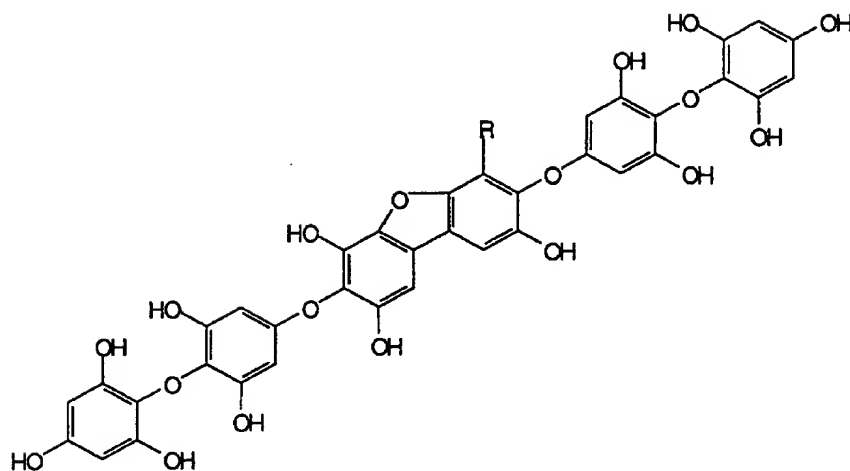
<46> 본 발명의 단순한 변형 내지 변경은 모두 본 발명의 영역에 속하는 것으로 본 발명의 구체적인 보호범위는 첨부된 특허청구범위에 의하여 명확해질 것이다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

하기 화학식 1로 표시되는 것을 특징으로 하는 물질:

화학식 1



상기 식에서 R은 수소 또는 히드록시기이다.

【청구항 2】

파쇄된 감태에 유기용매를 첨가하여 추출되는 것을 특징으로 하는 제1항의 물질을 포함하는 추출물.

【청구항 3】

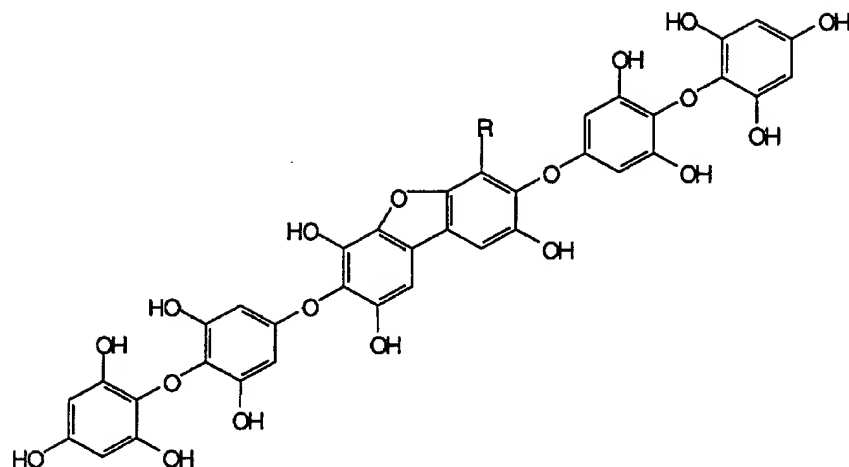
파쇄된 감태에 유기용매를 첨가하여 1회 또는 2회 이상 추출하는 단계;

상기 추출된 물질을 1회 또는 2회 이상 용매분획하는 단계; 및

상기 용매분획물을 크로마토그래피법으로 정제하는 단계;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 감태로부터 하기 화학식 1로 표시되는 물질을 추출 및 정제하는 방법:

화학식 1



상기 식에서 R은 수소 또는 히드록시기이다.

【청구항 4】

제3항에 있어서, 상기 유기용매가 메탄올, 에탄올, 에틸 아세테이트, 아세토니트릴, 아세톤, 물과 이들의 혼합물 및 물/에탄올 혼합물로 이루어진 군으로부터 하나 또는 그 이상 선택되는 것을 특징으로 하는 감태로부터 상기 화학식 1로 표시되는 물질을 추출 및 정제하는 방법.

【청구항 5】

제3항에 있어서, 상기 추출 단계가 동일한 유기용매 또는 상이한 유기용매를 사용하여 반복 실시되는 것을 특징으로 하는 감태로부터 상기 화학식 1로 표시되는 물질을 추출 및 정제하는 방법.

【청구항 6】

제3항에 있어서, 상기 용매분획 단계가 극성층으로 10~90%의 메탄올 수용액을 사용하고 비극성층으로 선형 또는 환형 탄화수소 용매; 방향족 용매; 또는 이들의 혼합물을 사용하여 1차 용매분획하는 단계;

상기 1차 용매분획 단계를 거친 메탄올 수용액 층을, 극성층으로 10~60%의 메탄올 수용액을 사용하고 비극성층으로 1 또는 2 종류 이상의 에테르를 사용하여 2차 용매분획하는 단계; 및

상기 2차 용매분획 단계를 거친 메탄올 수용액 층을, 극성층으로 10~60%의 메탄올 수용액을 사용하고 비극성층으로 클로로포름, 디클로로메탄, 또는 이들의 혼합물을 사용하여 3차 용매분획하는 단계;

로 이루어진 것을 특징으로 하는 감태로부터 상기 화학식 1로 표시되는 물질을 추출 및 정제하는 방법.

【청구항 7】

제6항에 있어서, 상기 용매분획 단계가 극성층으로 10~90%의 메탄올 수용액을 사용하고 비극성층으로 헥산을 사용하여 1차 용매분획하는 단계;

상기 1차 용매분획 단계를 거친 메탄올 수용액 층을, 극성층으로 20~40%의 메탄올 수용액을 사용하고, 비극성층으로 이소프로필에테르를 사용하여 2차 용매분획하는 단계; 및

상기 2차 용매분획 단계를 거친 메탄올 수용액 층을, 극성층으로 30~50%의 메탄올 수용액을 극성층으로 사용하고 비극성층으로 클로로포름을 사용하여 3차 용매분획하는

단계;

로 이루어진 것을 특징으로 하는 감태로부터 상기 화학식 1로 표시되는 물질을 추출 및 정제하는 방법.

【청구항 8】

제3항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 추출 및 정제하는 방법이 추출된 물질을 에틸아세테이트 및/또는 메탄올에 용해시킨 다음, 용해된 물질만을 상기 용매분획 단계에 공급하는 단계를 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 감태로부터 상기 화학식 1로 표시되는 물질을 추출 및 정제하는 방법.

【청구항 9】

제3항에 있어서, 상기 크로마토그래피법이 중압액체크로마토그래피(MPLC) 또는 고성능 액체크로마토그래피(HPLC)인 것을 특징으로 하는 감태로부터 상기 화학식 1로 표시되는 물질을 추출 및 정제하는 방법.

【청구항 10】

제1항 또는 제2항의 물질 또는 추출물을 항산화제의 용도로 적용하는 것을 특징으로 하는 사용방법.

【서류명】	서지사항보정서	
【수신처】	특허청장	
【제출일자】	2000.05.04	
【제출인】		
【명칭】	벤티리 주식회사	
【출원인코드】	119980993124	990367860
【사건과의 관계】	출원인	
【대리인】		
【성명】	염승윤	
【대리인코드】	919980003979	
【포괄위임등록번호】	19990367860	990367860
【대리인】		
【성명】	이철	
【대리인코드】	919980003511	
【포괄위임등록번호】	19990367852	
【대리인】		
【성명】	이인실	
【대리인코드】	919980003495	
【포괄위임등록번호】	19990367845	
【사건의 표시】		
【출원번호】	1020000022593	
【출원일자】	2000.04.27	
【발명의 명칭】	감태로부터 분리된 신규 물질, 이의 추출 및 정제방법, 및 항산화제로 사용하는 용도	
【제출원인】		
【접수번호】	112000008467526	
【접수일자】	2000.04.27	
【보정할 서류】	특허출원서	
【보정할 사항】		
【보정대상 항목】	첨부서류	
【보정방법】	제출	
【보정내용】		
【첨부서류】	중소기업임을 증명하는 서류	

【취지】	특허법시행규칙 제13조·실용신안법시행규칙 제12조의 규정에 의하여 위와 같이 제출합니다.
【수수료】	
【보정료】	0
【기타 수수료】	0
【합계】	0
【첨부서류】	중소기업기본법시행령 제2조에의한 중소기업에 해당함을 증명하는 서류(사업자등록증(원본은 동일자 제출하는 특허출원 제20-2000-22586호의 전자문서첨부서류제출서에 첨부된 것을 원용함))1통 중소기업기본법시행령 제2조에의한 중소기업에 해당함을 증명하는 서류(원천징수이행상황신고서확인원(원본은 동일자 제출하는 특허출원 제20-2000-22586호의 전자문서첨부서류제출서에 첨부된 것을 원용함))1통 중소기업기본법시행령 제2조에의한 중소기업에 해당함을 증명하는 서류(재무제표증명원(원본은 동일자 제출하는 특허출원 제20-2000-22586호의 전자문서첨부서류제출서에 첨부된 것을 원용함))1통